IMAGEN Chlamydia

REF K610111-2 Σ 50 **FR**

Test pour la détection de Chlamydia par immunofluorescence directe.

1. MODE D'EMPLOI

Le test IMAGEN™ Chlamydia est un test d'immunofluorescence directe qualitatif pour la détection de Chlamydia dans des échantillons uro-génitaux ou ophtalmiques humains ainsi que pour la confirmation des Chlamydiae en culture cellulaire.

2. RESUME

Les Chlamydiae sont des parasites intracellulaires obligatoires, étroitement liés aux entérobactéries[1]. Le genre Chlamydia comporte trois espèces connues: *Chlamydia trachomatis (C. trachomatis), Chlamydia psittaci (C. psittaci)* et *Chlamydia pneumoniae (TWAR)*.

Le cycle de vie des Chlamydiae est complexe, mais deux structures principales sont connues, le corps élémentaire infectieux et le corps réticulé. L'infection d'une cellule commence quand le corps élémentaire adhère à la surface de la cellule-hôte et se fraye un passage dans la cellule par endocytose. Le corps élémentaire se développe à l'intérieur de la vacuole formée par la membrane de la cellule-hôte et se différencie pour former les corps réticulés. Les corps réticulés sont seuls impliqués dans la multiplication des Chlamydiae et se divisent par fission binaire en utilisant l'apport énergétique de la cellule-hôte. Environ 24 heures après l'infection, les corps réticulés se différencient à l'intérieur de l'inclusion pour former des corps élémentaires. Le cycle de reproduction dure entre 48 et 72 heures et se termine par la rupture de l'inclusion et la libération des corps élémentaires. Une inclusion arrivée à maturité peut contenir environ 10^4 corps élémentaires de Chlamydiae et occuper 75% du volume de la cellule-hôte.

C. trachomatis (ou trachome) a été reconnu comme source fréquente des maladies sexuellement transmissibles[1,2] et on a montré qu'il occasionnait une grande variété d'infections chez l'homme (dont certaines peuvent être asymptomatiques).

Chez l'adulte, *C. trachomatis* peut également occasionner une conjonctivite folliculaire aiguë ou sub-aiguë qui risque d'évoluer en kératite ponctuée. Occasionnellement peut se développer un trachome cicatriciel et endémique. La plupart de ces symptômes se développent chez les patients souffrant d'infections génitales non reconnues[1,3]. L'ophtalmie des nouveau-nés est une complication de la maladie chez les enfants nés de mère infectée.

Les sites anatomiques où l'on effectue généralement les prélèvements en vue de diagnostiquer le Chlamydia sont la conjonctive, le canal cervical utérin et l'urètre. Chez les hommes, et plus particulièrement les adolescents et les hommes asymptomatiques examinés suite au tracé de contact post-hospitalier, il peut s'avérer impossible de prélever des échantillons urétraux par voie interne. Dans ce cas, il est suggéré d'utiliser des échantillons de la première urine du matin et d'examiner le dépôt centrifugé[4]. Des échantillons respiratoires (par exemple, sputum) ont également été examinés directement, en vue de détecter *C. psittaci* et *C. pneumoniae* dans le cadre du dépistage des infections respiratoires[5,6].

Il existe actuellement 3 méthodes principales de diagnostic utilisées pour détecter les Chlamydiae dans des échantillons cliniques. La première isole l'organisme et le visualise; les corps élémentaires viables présents dans les échantillons cliniques infectent les cellules de culture de tissus et les inclusions qui en résultent sont mises en évidence par des techniques de coloration comme, par exemple, l'iode ou l'immunofluorescence. La seconde méthode met directement en évidence les Chlamydiae dans les échantillons cliniques en utilisant un anticorps monoclonal marqué à la fluorescéine.

La troisième consiste à utiliser un test immuno-enzymatique (par exemple IDEIA Chlamydia) afin de déterminer la présence de l'antigène de Chlamydia dans les échantillons cliniques[7].

Les techniques d'immunofluorescence directe qui utilisent des anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine[8,9,10] ont révélé une bonne corrélation par rapport aux techniques de culture cellulaire utilisées pour détecter *C. trachomatis*.

Le test IMAGEN Chlamydia est un test d'immunofluorescence directe conçu pour détecter et identifier les Chlamydiae dans des échantillons cliniques ou des cultures cellulaires. Le test utilise un anticorps monoclonal spécifique du genre de l'antigène de Chlamydia lipopolysaccharide présent dans toutes les souches connues de Chlamydiae.

3. PRINCIPE DU TEST

Le réactif du test IMAGEN Chlamydia contient un anticorps monoclonal conjugué à de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). L'anticorps monoclonal spécifique du genre détecte les corps élémentaires de toutes les espèces humaines de *C. trachomatis* connues, ainsi que des souches de *C. psittaci* et *C. pneumoniae*.

L'anticorps conjugué est utilisé dans le cadre d'une technique d'immunofluorescence directe en une étape. Les échantillons sont incubés avec le réactif conjugué au FITC pendant 15 minutes. L'excès de réactif est ensuite éliminé par lavage à l'aide d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), les zones colorées sont montées entre lame et lamelle et examinées au moyen d'un éclairage épifluorescent.

Si des Chlamydia sont présents dans l'échantillon clinique, ils apparaissent sous forme de corps élémentaires fluorescent vert pomme, vifs, qui contrastent avec la couleur du réactif de contraste. Les monocouches de culture cellulaire infectées, colorées à l'aide de l'anticorps monoclonal conjugué au FITC, contiennent des inclusions intracytoplasmiques vert pomme de Chlamydia qui se différencient de la coloration de l'arrière-plan cellulaire coloré par le réactif de contraste.

Remerciements

L'anticorps monoclonal a été produit par le Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, Royaume-Uni et la Division of Communicable Diseases, Clinical Research Centre, Harrow, Middlesex, Royaume-Uni.

4. DEFINITIONS

Les symboles suivants sont utilisés dans l'ensemble des informations relatives au produit.

REF	Numéro de catalogue
i	Consulter les instructions d'utilisation
Σ N	Contenu suffisant pour <N> tests
	Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic *In vitro*
	Utilisez par date
LOT	Code du Lot
	Limites de température

5. REACTIFS FOURNIS

Σ 50 - Chaque kit contient suffisamment de réactif pour traiter 50 préparations de culture cellulaire. - La date de péremption du kit est indiquée sur l'étiquette extérieure de la boîte.

5.1. REACTIF IMAGEN CHLAMYDIA

i	Un livret d'instructions d'utilisation.
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 x 1 lame de contrôle positif contenant des cellules de tissu conjonctif de souris fixées à l'acétone (L929) infectées par la souche L_1 de *C. trachomatis*.

Un flacon de chacun des produits suivants:

MOUNTING FLUID	3mL de liquide de montage. Le liquide de montage contient un inhibiteur de blanchissage optique dans une solution de glycérol (pH 10,0).
REAGENT	1,4mL du réactif de test IMAGEN Chlamydia. Ce réactif contient de l'anticorps monoclonal murin purifié spécifique du genre Chlamydia, conjugué à du FITC.

5.2. PREPARATION, STOCKAGE ET REUTILISATION DES COMPOSANTS DU KIT

Pour des performances optimales, il convient de stocker tous les composants du kit inutilisés en respectant les consignes suivantes.

5.3. LAMES DE CONTROLE POSITIF - POSITIVE CONTROL SLIDE

Les lames de contrôle positif sont fournies dans des poches individuelles étanches avec de l'azote. Conserver les lames inutilisées à une température comprise entre 2-8°C. Laisser reposer la lame pendant 5 minutes à température ambiante (15-30°C) avant ouverture.

Utiliser la lame immédiatement après ouverture de l'emballage.

5.4. LIQUIDE DE MONTAGE - MOUNTING FLUID

Prêt à l'emploi. Conserver le liquide de montage inutilisé à une température comprise entre 2-8°C. Il faut laisser reposer le liquide de montage à température ambiante (15-30°C) pendant 5 minutes avant utilisation.

5.5. REACTIF - REAGENT

Prêt à l'emploi. Conserver le réactif inutilisé à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 2-8°C. Laisser reposer le réactif pendant 5 minutes à température ambiante (15-30°C) avant ouverture.

6. REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

6.1. REACTIFS

Fresh acétone (pour la fixation).

Solution saline tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,5, pour le lavage des échantillons et monocouches colorés.

6.2. ACCESSOIRES

Les produits suivants doivent être utilisés avec IMAGEN Chlamydia. Contactez votre distributeur local pour plus d'informations.

Téflon lames de microscope en verre avec bien seul diamètre 6mm (100 lames par boîte) disponible chez votre distributeur local, (Code n ° S611430-6).

IMAGEN Chlamydia Positive Control Slides (Code No S610930-2).

Kit de prélèvement d'échantillons Chlamydia - disponible par 20, en boîte-distributeur, (Code No. S610730-2).

7. EQUIPMENT

Le matériel suivant est nécessaire:

Pipette de précision et embouts jetables pour des quantités de 25µL

Bain de lavage

Lamelles pour des puits de 6mm de diamètre

Huile d'immersion non fluorescente

Microscope épifluorescent avec filtre pour FITC (longueur d'onde d'excitation maximale 490nm, longueur d'onde d'émission moyenne 520nm) et lentilles pour amplification x200-x400 et x600-x1000

Incubateur à 37°C

Centrifugeuse basse vitesse

Pour confirmation de culture

Ecouvillons stériles et milieu de transport adapté au prélèvement, au transport et à la culture des Chlamydiae

Lignées de culture cellulaire recommandées pour l'isolation de Chlamydia

8. PRECAUTIONS

IVD - Pour usage diagnostique *in vitro*. L'utilisateur doit maitriser les procédures générales de laboratoire et être spécifiquement formé pour l'emploi de ce test.

8.1. MESURES DE SECURITE

8.1.1 Le réactif IMAGEN test de Chlamydia contient <0,1% d'azoture de sodium, qui est un poison. L'azide de sodium risque de réagir avec les canalisations de plomb ou de cuivre, formant ainsi des azides de métal très explosifs. Toujours éliminer les matériaux contenant de l'azide en rinçant avec de grandes quantités d'eau.

8.1.2 Les Chlamydiae de la lame de contrôle positif se sont révélés non infectieux lors de la culture cellulaire. Toutefois, il convient de manipuler et d'éliminer la lame comme susceptible d'être infectieuse.

8.1.3 Présence du colorant bleu Evans dans le réactif. Bien que le produit soit en concentrations inférieures à celles qui requièrent qu'on le classe comme cancérogène, éviter tout contact avec la peau.

8.1.4 Mounting Fluid contient un produit irritant pour la peau : des précautions particulières doivent donc être prises lors de son utilisation. Bien que le produit soit en concentrations inférieures à celles qui requièrent qu'on le classe comme irritant, rincer la peau sous l'eau en cas de contact.

8.1.5 Le réactif du test IMAGEN Chlamydia contient des immunoglobulines humaines. Ce composé a donné des résultats négatifs pour la présence d'anticorps anti-HIV, et d'antigène de surface de l'hépatite C et de l'hépatite B. Néanmoins il convient de le manipuler avec précaution et de le considérer comme potentiellement infectieux.

8.1.6 Ne pas manger, boire, fumer, conserver ou préparer de la nourriture, ni utiliser des cosmétiques dans les lieux

d'utilisation.

8.1.7 Ne pas pipéter les solutions à la bouche.

8.1.8 Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons cliniques et des cellules infectées et toujours se laver les mains après avoir utilisé des substances infectieuses.

8.1.9 L'élimination de tous les échantillons cliniques doit avoir lieu conformément à la législation en vigueur.

8.1.10 Fixe toxicologique disponible pour les utilisateurs professionnels, sur demande.

8.2. 8.2 PRECAUTIONS TECHNIQUES

8.2.1 Ne pas utiliser les composants après la date d'expiration imprimée sur les étiquettes. Ne pas mélanger différents lots de réactifs.

8.2.2 Les réactifs sont fournis à des concentrations dosées fixes. Les performances du dosage seront altérées si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles décrites dans la Section 5.

8.2.3 Préparer de la solution saline tamponnée au phosphate (PBS) fraîche, selon les besoins, le jour de son utilisation.

8.2.4 Le lavage dans du PBS est nécessaire. L'utilisation d'autres solutions de lavage, comme l'eau du robinet ou l'eau distillée, compromettrait les résultats du test.

8.2.5 Eviter la contamination microbienne des réactifs.

8.2.6 Ne pas congeler les réactifs.

9. PRELEVEMENT ETPREPARATION DES ECHANTILLONS[7,8]

Les échantillons, prélevés dans l'urètre chez l'homme, le col utérin chez la femme et sur la conjonctive, doivent contenir autant de cellules épithéliales que possible, dans la mesure où les Chlamydiae sont des organismes intracellulaires qui infectent les surfaces épithéliales[1].

9.1. ECHANTILLONS CLINIQUES

9.1.1 Echantillon urétral (hommes)

Effectuer le frottis urétral en insérant dans l'urètre, sur 2-4cm, un écouvillon fin à embout en alginate ou en coton. Faire tourner plusieurs fois l'écouvillon puis le retirer de l'urètre.

9.1.2 Echantillon endocervical (femmes)

Avant d'effectuer un prélèvement endocervical, nettoyer l'orifice cervical à l'aide de gaze stérile pour éliminer tout excès de mucus, de sang/pus, etc. Effectuer le frottis endocervical en insérant dans le canal cervical, sur environ 1cm, un écouvillon à embout en alginate ou en coton ou une brosse cytologique. Faire tourner l'écouvillon plusieurs fois au niveau de la jonction entre l'épithélium prismatique et l'épithélium squameux, puis retirer l'écouvillon sans toucher les surfaces vaginales.

9.1.3 Echantillon ophtalmique

Appliquer sur l'œil un anesthésique local; ensuite, exposer la conjonctive supérieure et inférieure. En utilisant un écouvillon à embout en coton ou en Dacron®, frotter vigoureusement les surfaces conjonctivales supérieure et inférieure, en faisant tourner l'écouvillon au cours du prélèvement pour que la totalité de la surface conjonctivale soit échantillonnée.

REMARQUE: Le kit de prélèvement d'échantillons IMAGEN Chlamydia (voir Section 6.2) convient pour le prélèvement des échantillons mentionnés ci-dessus.

9.1.4 Préparation des lames

Faire tourner l'écouvillon d'échantillon en appliquant une légère pression, sur le puits de 6mm de la lame pour microscope. Veiller à préparer la lame avec la totalité de l'embout d'écouvillon.

Laisser l'échantillon sécher complètement à l'air libre, à température ambiante (15-30°C), puis fixer dans l'acétone frais pendant 10 minutes. Laisser la lame sécher à l'air libre. Si l'échantillon n'est pas immédiatement coloré, conserver à 4°Cpendant une nuit ou conserver congelé à –20°C pendant 2 mois maximum.

9.2. MONOCOUCHES DE CULTURE CELLULAIRE

Eliminer le milieu de la surface de la monocouche. Ne pas laisser sécher les cellules car les corps d'inclusion risquent d'éclater. Fixer immédiatement la monocouche dans du méthanol frais pendant 10 minutes, puis sécher convenablement à l'aide de papier absorbant. Les monocouches fixées doivent être colorées immédiatement. Elles peuvent toutefois être conservées une nuit à 4°C avant la coloration.

10. MODE OPERATOIRE

VEUILLEZ CONSULTER LA SECTION 8.2, PRÉCAUTIONS TECHNIQUES, AVANT DE RÉALISER LE TEST.

10.1. AJOUT DU REACTIF

Ajouter 25µL de réactif sur l'échantillon fixé (voir Section 9.1), la monocouche de culture cellulaire fixée (voir Section 9.2) ou la lame de contrôle positif. Veiller à ce que le réactif recouvre le puits en totalité.

10.2. PREMIERE INCUBATION

Incuber les lames avec le réactif dans une **chambre humide** pendant **15 minutes** à **37°C**. Ne pas laisser le réactif sécher sur l'échantillon: ceci entraînerait une coloration non spécifique.

10.3. LAVAGE DE LA LAME

Eliminer le réactif en excès avec de la solution saline tamponnée au phosphate (PBS) puis laver doucement la lame dans un bain sous agitation contenant de la solution PBS, pendant 5 minutes. Eliminer la solution PBS et laisser la lame sécher à l'air libre à température ambiante (15-30°C).

10.4. AJOUT DU LIQUIDE DE MONTAGE

Ajouter une goutte de liquide de montage au centre de chaque puits et placer un couvre-objet sur le liquide de montage et sur l'échantillon, en veillant à ne pas piéger de bulles d'air.

10.5. LECTURE DE LA LAME

Examiner au microscope à épifluorescence la totalité du puits contenant l'échantillon coloré. La fluorescence doit être visible à un grossissement de x200 à x500 (voir Section 11). (Pour obtenir des résultats optimums, il convient d'examiner les lames immédiatement après coloration; celles-ci peuvent cependant être conservées entre 2-8°C, à l'abri de la lumière, pendant 24 heures maximum).

11. INTERPRETATION DES RESULTATS DU TEST

11.1. CONTRÔLES

11.1.1 Lames de contrôle positifs

Lors de l'examen conformément aux instructions de la Section 10, la lame de contrôle positif doit présenter des corps élémentaires extracellulaires (CE) sous la forme de très petits cercles fluorescents, vert pomme, vifs, aux contours lisses, d'environ 300nm de diamètre. Ces corps élémentaires se détachent sur un fond de cellules et débris cellulaires colorés en rouge.

D'autres formes de Chlamydia, 2-3 fois plus grandes que les CE, peuvent également apparaître; certaines d'entre elles présentent la même fluorescence ou leur centre est noir et entouré d'une auréole de fluorescence vert pomme. Il s'agit là probablement de formes intermédiaires de Chlamydia ou de corps réticulés. Parfois, de grandes inclusions de Chlamydia intracytoplasmiques intactes, très fluorescentes, apparaissent.

11.1.2 Contrôle négatif

Si un contrôle négatif s'avère nécessaire, il est recommandé d'utiliser des cellules intactes non contaminées ou rompues d'un type semblable à celles utilisées pour la culture et l'isolation de Chlamydia. Les cellules doivent être préparées et fixées conformément aux indications de la Section 9.2 et colorées comme indiqué à la Section 10.

11.2. ECHANTILLONS CLINIQUES

11.2.1 Apparition de Corps de Chlamydia

Les corps élémentaires extracellulaires constituent la forme la plus courante de chlamydia dans les échantillons cliniques et se présentent sous la forme de corps aux contours lisses, vert pomme, vifs, d'environ 300nm de diamètre, comme indiqué à la Section 11.1.1.

11.2.2 Interprétation des Résultats

Le diagnostic est positif lorsque les échantillons colorés et fixés présentent au moins 10 corps de Chlamydia. Ce nombre a été défini de manière à limiter les résultats positifs erronés dus à une mauvaise interprétation de la fluorescence non spécifique. Les cellules contre-colorées **doivent** être visibles à l'intérieur d'un puits pour permettre de conclure à un résultat négatif. Il peut s'agir de cellules épithéliales cylindriques ou squameuses, intactes ou brisées, ou même de leucocytes polymorphonucléaires. Si le prélèvement des échantillons n'a pas été correctement effectué, il risque de ne pas y avoir de substance cellulaire, auquel cas il convient de recommencer le prélèvement.

11.2.3 Fluorescence Non Spécifique

Les substances de forme irrégulière dont la morphologie diffère des corps de chlamydia décrits à la Section 11.1.1 et qui présentent une fluorescence blanche, rouge ou jaune plutôt que vert pomme doivent être considérées comme étant le résultat d'une coloration non spécifique.

11.3. CONFIRMATION DE LA CULTURE CELLULAIRE

11.3.1 Apparition d'Inclusions de Chlamydia

Les inclusions intracellulaires de chlamydia se présentent comme des sacs vert pomme, dans le cytoplasme des cellules contaminées. Une inclusion peut occuper jusqu'à 75% du cytoplasme de la cellule-hôte.

11.3.2 Interprétation des Résultats

Le diagnostic est positif lorsqu'une ou plusieurs inclusions intracellulaires de Chlamydia colorées apparaissent dans la monocouche.

12. LIMITES DU TEST

12.1. L'apparence visuelle de l'image de fluorescence obtenue peut varier en fonction du type de microscope et de la source lumineuse utilisée.

12.2. Utiliser exclusivement le liquide de montage fourni.

12.3. Il est recommandé d'utiliser 25µL de réactif pour couvrir la surface d'un puits de 6mm. Si ce volume est réduit, il risque de s'avérer difficile de recouvrir la surface de l'échantillon, au risque de diminuer la sensibilité.

12.4. Tous les réactifs sont fournis pour des dilutions déterminées. Les performances du test risquent d'être altérées si les réactifs sont modifiés de quelque façon que ce soit ou s'ils ne sont pas conservés dans les conditions recommandées, comme indiqué à la Section 5.1.

12.5. La non détection de Chlamydia dans une culture cellulaire peut résulter de divers facteurs, comme le prélèvement de l'échantillon à un moment inapproprié de l'évolution de la maladie, le prélèvement et/ou la manipulation inappropriés de l'échantillon, une culture cellulaire défectueuse, etc. Un résultat négatif n'exclut donc pas la possibilité d'une infection par Chlamydia.

12.6. Les systèmes de détection d'antigène tels que le test IMAGEN Chlamydia ne doivent pas être utilisés pour obtenir des informations dans le cadre d'examens médico-légaux. Seules les cultures standard de Chlamydia peuvent être utilisées pour évaluer des cas d'abus ou autres dans lesquels l'éventualité d'un résultat faux positif aux systèmes de détection d'antigène est inacceptable[11].

12.7. La présence de chlamydia dans les échantillons cliniques n'exclue pas nécessairement la possibilité d'une infection concomitante due à d'autres pathogènes. Les résultats doivent être interprétés conjointement aux informations recueillies à partir des études épidémiologiques, de l'examen clinique du patient et d'autres procédures de diagnostic.

13. VALEURS NORMALES

Le taux de prévalence des infections à Chlamydia dans une étude de population varie en fonction du type de population étudié[1,2].

Le taux de prévalence des infections uro-génitales par Chlamydia pour des patients non sélectionnés, suivis par un centre de médecine génito-urinaire, varie entre 10% et 25%.

En ce qui concerne les patients soignés pour urétrite non spécifique ou urétrite blennorragique, le taux peut atteindre 30% à 60%.

On constate un taux de prévalence d'infections uro-génitales moins élevé (moins de 10%) chez les patients suivis par des cliniques obstétriques et gynécologiques[1,12].

Le taux de prévalence des infections ophtalmiques par Chlamydia peut varier entre 5% et 20% dans le cadre d'études consacrées au paratrachome (conjonctivite à inclusions)[1,9].

14. PERFORMANCES CARACTERISTIQUES

14.1. SPECIFICITE DE L'ANTICORPS MONOCLONAL

Il a été démontré que l'anticorps monoclonal utilisé dans le réactif IMAGEN Chlamydia réagissait avec un épitope de Chlamydia lipopolysaccharide commun à toutes les souches de Chlamydiae.

Une coloration non spécifique apparaît parfois lors de la coloration immunochimique, et ce en raison de liaisons entre les fragments Fc de l'anticorps et la protéine A produite par certaines souches de *Staphylococcus aureus*. Le réactif IMAGEN Chlamydia a été conçu pour réduire de telles liaisons.

14.2. PERFORMANCES CLINIQUES[13]

14.2.1 Echantillons uro-genitaux

Le test IMAGEN Chlamydia a été évalué par 2 laboratoires de diagnostic par rapport à des systèmes de culture cellulaire reconnus (coloration Giemsa de monocouches de cellules McCoy prétaitées après culture primaire avec les échantillons). Des échantillons urétraux et cervicaux ont été prélevés sur des patients non sélectionnés, suivis par des centres de traitement des maladies sexuellement transmissibles. Le taux d'infections par Chlamydia pour les groupes de population étudiés variait

entre 10% et 20%. On a réalisé des frottis à partir de prélèvements, à la clinique, et ces prélèvements ont ensuite été placés dans un milieu de transport en vue de leur évaluation par culture cellulaire.

Un échantillon était considéré comme positif dans le cadre du test IMAGEN Chlamydia lorsqu'on observait un minimum de 10 corps fluorescents (voir Section 11.2.2). Un échantillon était considéré comme positif selon le test de culture cellulaire lorsqu'on observait au moins une inclusion de Chlamydia intracytoplasmique colorée.

Le tableau 14.1 présente les résultats de 2 études. Sur les 935 échantillons testés, on a obtenu le même résultat d'après les deux méthodes dans 898 cas, soit une corrélation de 96%. La sensibilité et la spécificité générales du test IMAGEN Chlamydia atteignent respectivement 92% et 97%, en supposant que les méthodes de culture cellulaire soient à 100% sensibles et spécifiques. Les valeurs prédictives des tests positifs et négatifs atteignent respectivement 84% et 98%.

Tableau 14.1 Comparaison des résultats obtenus par culture cellulaire et avec le test IMAGEN Chlamydia sur des échantillons uro-génitaux

TEST	RESULTAT			
Culture cellulaire	**Négatif**	**Positif**	**Positif**	**Négatif**
IMAGEN Chlamydia	**Négatif**	**Positif**	**Négatif**	**Positif**
Centre 1	337	74	4	17
Centre 2	427	60	8	8
Total	764	134	12	25

14.2.2 Echantillons Ophtalmiques

Le test IMAGEN Chlamydia a été évalué dans un laboratoire de diagnostic ordinaire par rapport à un système de culture cellulaire reconnu (coloration Giemsa de monocouches de cellules McCoy prétraitées après culture primaire avec des échantillons). On a prélevé des échantillons conjonctifs sur 178 patients atteints de conjonctivite à inclusions fréquentant un service d'ophtalmologie; 163 d'entre eux étaient âgés de 13 à 55 ans, 3 bébés (10 semaines à 12 mois) et 12 nouveau-nés (12 jours à 4 semaines). Le taux de prévalence d'infections à Chlamydia dans le groupe de population étudié atteignait 8%. On a réalisé des frottis à partir de prélèvements, à la clinique, et ces prélèvement ont été placés dans un milieu de transport en vue de leur évaluation par culture cellulaire. Un échantillon était considéré comme positif selon le test IMAGEN Chlamydia lorsqu'au moins 10 corps fluorescents étaient observés (voir Section 11.2.2).

Un échantillon était considéré comme positif selon la culture cellulaire lorsqu'au moins une inclusion intracytoplasmique colorée était observée.

Le tableau 14.2 reprend les résultats de cette étude. Sur les 178 échantillons testés, on a obtenu les mêmes résultats avec les deux méthodes dans 174 cas, soit une corrélation de 98%.

La sensibilité et la spécificité du test IMAGEN Chlamydia atteignent respectivement 100% et 97,5%, en supposant que la méthode de culture cellulaire soit à 100% sensible et spécifique. Les valeurs prédictives pour les tests positifs et négatifs atteignent respectivement 79% et 100%.

Tableau 14.2 Comparaison des résultats du test selon la culture cellulaire et selon le test IMAGEN Chlamydia sur des échantillons ophtalmiques

TEST	RESULTAT			
Culture cellulaire	**Négatif**	**Positif**	**Positif**	**Négatif**
IMAGEN Chlamydia	**Négatif**	**Positif**	**Négatif**	**Positif**
Nombre d'échantillons	159	15	0	4*

* Ces échantillons ont été prélevés sur des patients soumis à un traitement par antibiotiques. Ce traitement peut avoir influencé le résultat de la culture cellulaire[9].

14.2.3 Confirmation de la culture cellulaire

Le test IMAGEN Chlamydia a été évalué en tant que test de confirmation de culture par rapport à 2 procédures de confirmation de culture généralement utilisées (Giemsa et iode). 132 échantillons uro-génitaux ont chacun été inoculés sur 3 monocouches de cellules (flacon cylindrique) McCoy traitées à l'iododéoxyuridine. Les monocouches inoculées ont été incubées à 37°C pendant 48 à 72 heures, puis fixées dans du méthanol pendant 10 minutes. Les monocouches fixées ont ensuite été colorées par Giemsa, iode ou réactif du test IMAGEN Chlamydia. Un échantillon était considéré comme positif lorsqu'au moins une inclusion intracytoplasmique colorée était observée au microscope.

Le tableau 14.3 présente les résultats de cette étude. Sur les 132 échantillons testés, 56 (42%) ont développé des corps à inclusion. La coloration à l'iode a décelé le Chlamydia dans 46 échantillons, la coloration Giemsa dans 49 échantillons et IMAGEN Chlamydia dans 56 échantillons.

Tableau 14.3 Comparaison des méthodes de coloration pour détection des inclusions de Chlamydia dans la culture en flacons cylindriques

TEST	RESULTAT				
IMAGEN Chlamydia	**Positif**	**Négatif**	**Positif**	**Positif**	**Positif**
Coloration Giemsa	**Positif**	**Négatif**	**Négatif**	**Positif**	**Négatif**
Coloration à l'iode	**Positif**	**Négatif**	**Négatif**	**Négatif**	**Positif**
Nombre d'échantillons	42	76	3	7	4

14.3. REACTIVITE CROISEE

Il a été démontré que l'anticorps monoclonal utilisé pour le test IMAGEN Chlamydia ne réagit pas avec les micro-organismes listés ci-dessous.

Acholeplasma laidlawii
Acinetobacter calcoaceticus var anitratus
Aeromonas hydrophila
Bacteroides fragilis
Bacillus cereus
Campylobacter coli
Candida albicans
Citrobacter freundii
Clostridium perfringens
Clostridium difficile
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Gardnerella vaginalis
Haemophilus influenzae
Klebsiella aerogenes
Mycoplasma arginini
Mycoplasma hyorhinis
Mycoplasma pneumoniae
Mycoplasma genitalium
Neisseria gonorrhoeae
Peptococcus sp
Peptostreptococcus anaerobius
Proteus mirabilis
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella minnesota
Serratia marcescens
Shigella sonnei
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus aureus
Streptococcus agalactiae
Streptococcus dysgalactiae
Streptococcus pyogenes
Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis
Streptococcus pneumoniae
Lactobacillus lactis
Listeria monocytogenes
Ureaplasma sp
Mycoplasma orale
Veillonella spp
Mycoplasma hominis

Virus
Herpes simplex virus

15. REFERENCES

1. Chlamydial Disease (1983)
   Ed. Darougar S
   British Medical Bulletin **39**: 107-203.
2. **Schachter, J. and Dawson, C.R. (1979)**
   Psittacosis - lymphogranuloma venereum agents/TRIC agents.
   In: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. Eds: Lennene, E.H., and Schmidt, N.J.
   5th edition. American Public Health Association. 1021-1059.
3. **Goh, B. (1988)**
   Chlamydia trachomatis genital infection.
   The Practitioner **232**: 813-818.
4. **Caul, E.O., Paul, I.D., Milne, J.D. and Crowley, T. (1988)**
   Non-invasive sampling method for detecting *Chlamydia trachomatis*. *Lancet* **11**: 1246-1247.
5. **Sillis, M. and White, P. (1990)**
   Rapid identification of *Chlamydia psittaci* and TWAR (*C. pneumoniae*) in sputum samples using an amplified enzyme immunoassay.
   Journal Clinical Pathology **43**: 260-262.
6. **Hammerschlag, M.R. (1992)**
   Chlamydia pneumoniae: A New Respiratory Pathogen. Infectious Diseases Newsletter, **Vol 11**: No 1, January 1992.
7. **Pugh, S.F., Slack, R.C.B., Caul, E.O., Paul, I.D., Appleton, P.N. and Gatley, S. (1985)**
   Enzyme amplified immunoassay: A novel technique applied to direct detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens.
   Journal of Clinical Pathology **38**: 1139-1141.
8. **Alexander, I., Paul, I. D. and Caul, E.O. (1985)**
   Evaluation of a genus reactive monoclonal antibody in rapid identification of Chlamydia trachomatis by direct immunoflourescence.
   Genitourinary Medicine **61**: 252-254.
9. **Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, A.P.C.H. and Caul, E.O. (1986)**
   Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infection in patients attending an ophthalmic casualty department.
   British Journal of Ophthalmology **70**: 677-681
10. **Thornley, M.J., Zamze, S.E., Byrne, M.D., Lusher, M. and Evans, R.T. (1985)**
    Properties of monoclonal antibodies to the genus specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutination.
    Journal of General Microbiology **131**: 7-15.
11. **CDC Report (1991)**
    False-Positive Results with the Use of Chlamydia Test in the Evaluation of Suspected Sexual Abuse - Ohio, 1990.
    Morbidity and Mortality **39**: 932-935.
12. **Chlamydial Infections (1986)**
    Eds Oriel, D., Ridgway, G., Schachter, J., Taylor-Robinson, D., and Ward, M.
    From Proceedings of the Sixth International Symposium on Human Chlamydial infections. Cambridge University Press.
13. **Galen, R.S. (1982)**
    Application of the Predictive Value Model in the analysis of test effectiveness. In: Clinics in Laboratory Medicine.
    Symposium on Test Selection Strategies. Volume 2. W B Saunders Company 685-699.

X7847 Révisé Mars 2013

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Royaume-Uni

Pour toute information, veuillez contacter votre distributeur local(e)

CE
0086